

DIALOG(R)File 352:Derwent WPI
(c) 2005 Thomson Derwent. All rts. reserv.

008722760

WPI Acc No: 1991-226777/199131

XRAM Acc No: C91-098497

XRPX Acc No: N91-172926

Filtration of plasma to remove viruses - using series of porous polymer membranes with decreasing pore size

Patent Assignee: ASahi CHEM IND CO LTD (ASAH)

Number of Countries: 001 Number of Patents: 001

Patent Family:

| Patent No | Kind | Date | Applicat No | Kind | Date | Week |
|------------|------|----------|-------------|------|----------|----------|
| JP 3146067 | A | 19910621 | JP 89284762 | A | 19891102 | 199131 B |

Priority Applications (No Type Date): JP 89284762 A 19891102

Abstract (Basic): JP 3146067 A

Several filters using porous polymer membrane are connected in series. The porous polymer membrane has 150 or more of the ratio of filtration speed of 5 wt. % aq. human serum albumin soln. and filtration speed of pure water and retardant coefft. of gold colloid of 30 mm particle size of 1 or more.

The filters are connected in such a way that the pore size of the first filter is not less than the pore size of the next filter.

ADVANTAGE - Viruses can be removed effectively, a high filtration speed can be maintained regardless of lipid content in the plasma and useful proteins in the plasma can be recovered in high yield. (8pp Dwg.No.0/4)

Title Terms: FILTER; PLASMA; REMOVE; VIRUS; SERIES; POROUS; POLYMER; MEMBRANE; DECREASE; PORE; SIZE

Derwent Class: J01; P34

International Patent Class (Additional): A61M-001/34

File Segment: CPI; EngPI

⑫ 公開特許公報(A) 平3-146067

⑬ Int. Cl.⁵A 61 M 1/34
1/02

識別記号

3 1 3
3 1 0

庁内整理番号

7720-4C
7720-4C

⑭ 公開 平成3年(1991)6月21日

審査請求 未請求 請求項の数 2 (全8頁)

⑮ 発明の名称 血漿濾過方法

⑯ 特 願 平1-284762

⑰ 出 願 平1(1989)11月2日

⑱ 発 明 者 佐 谷 満 州 夫 東京都千代田区内幸町1丁目1番1号 旭化成工業株式会社内

⑱ 発 明 者 真 鍋 征 一 東京都千代田区内幸町1丁目1番1号 旭化成工業株式会社内

⑱ 発 明 者 石 川 元 東京都千代田区内幸町1丁目1番1号 旭化成工業株式会社内

⑲ 出 願 人 旭化成工業株式会社 大阪府大阪市北区堂島浜1丁目2番6号

⑳ 代 理 人 弁理士 佐々木 俊哲

明 細 書

1. 発明の名称

血漿濾過方法

2. 特許請求の範囲

(1) 5重量%の人血清アルブミン水溶液の濾過速度(Jp)と純水の濾過速度(Jw)の比(Jp/Jw)が、1/50以上であり、かつ、粒子径30nmの金コロイド粒子の阻止係数(R)が1以上である高分子多孔膜を用いたフィルターを複数個、直列に連結することを特徴とする血漿からウイルスを除去する血漿濾過方法。

(2) 高分子多孔膜を用いたフィルターを複数個直列に連結するに際し、前段のフィルターの高分子多孔膜の孔径が、その次に連結されるフィルターの高分子多孔膜の孔径よりも小さくないように配置することを特徴とする請求項1記載の血漿濾過方法。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、血漿中あるいは血漿分画製剤中に存

在するウイルスを除去する血漿濾過方法に関する。本発明は、以下のような用途に適用され得る。(1)血液センターや病院等において、採血した血液を血球と血漿とに分離した後の血漿中からのウイルスの除去。(2)病院等において血漿を輸注する際の血漿からのウイルス除去。(3)血漿分画製剤の原料血漿からのウイルス除去。(4)血漿分画製剤を輸注する際の血漿分画製剤溶液からのウイルス除去(5)細胞培養等で使用される培地用の動物血清からのウイルス除去。

(従来技術)

血液、血漿中のウイルスを不活化する方法としては、加熱法、紫外線照射法、ベータープロピオラクトン等の薬剤処理法あるいは、有機溶剤と表面活性剤によるSolvent Detergent法等がある。しかし、いずれの方法においても、ウイルスの不活化と同時に、血漿中の有用蛋白質の変性や収率低下を起こしたり、薬剤や精製材料が微量残存したり、ウイルスの残骸が残ったり等問題も存在している。膜によるウイルス除去

方法として特開昭 60-142860 号公報、特開昭 60-142861 号公報に記載された方法がある。これらの方法に用いられる膜は実効膜厚が $5\mu\text{m}$ 以上で均質な膜構造を持つ膜特にポリオレフィンで構成され、孔の形はスリット状（短冊状）でしかも各孔は規則的に、かつ、平行に配列している。この膜を用いた濾過方法では、ウイルスの培養液の上澄を塩類溶液で 10 倍希釈したいわばウイルスを含む、蛋白質濃度が 1% 以下の蛋白質の低濃度水溶液の濾過が開示されているのみである。蛋白質濃度が 1% 以上では、濾過速度の低下は避けられず、上記の公知の方法では、濾過速度および濾過容量の点で蛋白質濃度が 1% 以上ある血漿中の、ウイルス除去の工業的手段として利用することは困難である。また得られた血漿濾液の生理活性は濾過前のそれに比べて著しく低下する。また蛋白質を含む水溶液の透明度が低い場合において、具体的にこれらの膜を用いたウイルス除去の実用化の例はない。

（本発明が解決しようとする問題点）

質組成の変化が大きくなるといった問題が生じる。

さらに、血漿あるいは、血漿分画製剤溶液の濾過にあたって考慮すべきことは、それらの液中に含まれる脂質、あるいは混在する微粒子の濾過速度に及ぼす影響である。血漿の脂質としては、コレステロール、トリグリセライド、遊離脂肪酸及びリン脂質が主なものであるが、これら脂質は血漿の中では蛋白質と結合したリポ蛋白の形で存在する。血漿中でリポ蛋白はいろいろな大きさの粒子の形をとり、カイロミクロンでは大きさ 80nm 以上であり、高比重リポ蛋白や低比重リポ蛋白では 80nm 未満の大きさである。実際の血漿の濾過にあたっては、血漿が人血漿、家畜の血漿であるを問わず、この血漿中の脂質が過剰に存在するときは、フィルターの目詰りを惹起し濾過速度を著しく低下させ、時には蛋白質の透過を阻止し、蛋白質を変性させることがある。従って、血漿中の脂質濃度が高い時も、血漿の濾過速度が大きく、ウイルスの除去率が高く、蛋白質の回収率

本発明の目的は、ウイルスの除去率が高く、血漿中の、あるいは血漿分画製剤中の有用蛋白質の回収率が高い、かつ短時間で濾過が出来る血漿濾過方法を提供しようとするものである。血漿中のウイルスを除去して、蛋白質を回収する場合、ウイルス除去の要求達成レベルは、蛋白質回収のそれに比べて格段に高い。多孔膜を用いてウイルス除去を行なう場合、蛋白質の透過率 $\left[\left(\text{濾液中の蛋白質濃度} / \text{元液中の蛋白質濃度} \right) \times 100 \right]$ は $1 \sim 99\%$ の範囲での議論が一般的であるのに対して、期待されるウイルスの除去率 $\left[\left\{ 1 - \left(\text{濾液中のウイルス濃度} / \text{元液中の蛋白質濃度} \right) \right\} \times 100 \right]$ は $99 \sim 99.999999\%$ である。ウイルスの除去のみを狙うならば、膜の孔径を小さくするか、孔径の代替としてポリスチレンラテックス粒子のような特定粒子の阻止係数を大きくすることによってウイルスの除去率は向上するであろう、しかしウイルスの除去率の向上にともなって蛋白質の透過率が低下するとともに、透過速度が低下する、ウイルス除去前後における蛋白

の大きい濾過方法が要求される。同様の問題は微粒子が分散する血漿分画製剤溶液にも当てはまる。以下血漿を事例に本発明を説明する。

（問題点を解決するための手段）

本発明者等は鋭意研究の結果、5 重量% の人血清アルブミン水溶液の濾過速度（ J_p ）と純水の濾過速度（ J_w ）の比（ J_p / J_w ）が、 $1/50$ 以上であり、かつ、粒子径 30nm の金コロイド粒子の阻止係数（ R ）が 1 以上である高分子多孔膜を用いたフィルターを複数個、直列に連結することで、またその際前段のフィルターの高分子多孔膜の孔径が、その次に連結されるフィルターの高分子多孔膜の孔径よりも小さくないように配置することで、上記問題点が解決されることを見出した。

本発明で使用する高分子多孔膜は、5 重量% の人血清アルブミン水溶液の濾過速度（ J_p ）と純水の濾過速度（ J_w ）の比（ J_p / J_w ）が、 $1/50$ 以上であり、かつ、粒子径 30nm の金コロイド粒子の阻止係数（ R ）が 1 以上であるこ

とが必要である。

ウイルスを除去すると同時に蛋白質を効率良く回収するためには J_p と J_w の比を考慮することが必要である。本発明者らは、 J_p/J_w の異なる各種の高分子多孔膜を用いて検討を行った結果、 J_p/J_w が大きくなるに伴ってウイルスの除去と蛋白質の回収が短時間で行われるとともに、ウイルス除去前後において蛋白質の組成変化が少ないことを見いだした。かかる観点から、 J_p/J_w は $1/50$ 以上であることが必要であり、好ましくは $1/20$ 以上、より好ましくは $1/10$ 以上である。 J_p/J_w が $1/50$ 未満では、ウイルス除去と蛋白質の回収の効率が低い。

粒子径 30 nm の金コロイド粒子の阻止係数 R が 1 以上の多孔膜であれば、ウイルス種とは無関係に人血漿中の既知ウイルスの除去率は 99% 以上となる。阻止係数は次式で定義される。

阻止係数 $=10g$ (濾過前の元液の被濾過物質の濃度/濾液中の被濾過物質の濃度)

度の点では、多いほど良いが、蛋白質の回収率の点ではフィルターのデッドスペースに血漿が残る、蛋白質の回収率が下がるので3個、好ましくは2個が望ましい。ただし、濾過後に生理食塩水等で洗浄すれば回収率の点では、4個以上の複数個でも好適な結果が得られる。この場合、第3図(b)に示すようにドリップチャンバーを回路内に加えると良い。多孔膜の孔径は、水濾過法で測定されるが、1段目のフィルターの多孔膜の孔径は $50\sim 200\text{ nm}$ が好ましく、 $50\sim 100\text{ nm}$ がより好ましい、2段目のフィルターの多孔膜の孔径は $30\sim 100\text{ nm}$ が好ましく、 $30\sim 50\text{ nm}$ がより好ましい。フィルターの多孔膜の孔径は、除去すべきウイルス種とそのウイルス除去率のレベルを考慮して選択されることが好ましい。膜厚は $10\sim 200\text{ }\mu\text{m}$ が好ましい。さらに好ましくは $20\sim 80\text{ }\mu\text{m}$ である。中空糸膜の場合、内径は $100\text{ }\mu\text{m}\sim 1\text{ mm}$ が好ましい。

高分子膜の素材としては、例えば、ポリビニルアルコール、エチレン・ビニルアルコール共重合

血漿の濾過速度としては、1バッチの濾過時間が血漿量の多少を問わず2時間以下、好ましくは1時間以下、最も好ましくは30分以下が望まれる。血漿の濾過速度は、血漿中の脂質の濃度と関係し、特に脂質濃度が高いときには、フィルターの目詰まりを起こしフィルター1個の場合には濾過速度が小さくなる。また、この問題は単にフィルターの濾過面積を大きくすることのみでは解決することは出来ない。この問題は、上記高分子多孔膜を用いたフィルターを複数個、直列に連結することによって解決される、またその際前段のフィルターの高分子多孔膜の孔径が、その次に連結されるフィルターの高分子多孔膜の孔径よりも小さくないように配置することで、濾過速度が大きく、かつ有用蛋白質の回収率が高く、かつ濾過容量(1 m^2 当たりの濾過量)が大きくなる。血漿中の脂質の代表値としてトリグリセライド濃度をとるとき、トリグリセライド濃度が 100 mg/ml 以上の場合に本発明は特に著しい効果を発揮する。直列に連結するフィルターの数は、濾過速

度、再生セルロース、ポリウレタン、ムコ多糖類、低置換度酢酸セルロース、低置換度酢酸セルロース、硫酸セルロース、ポリメチルメタアクリレート、ポリアクリル酸、ポリスチレン等が挙げられる。一般には、アルブミン吸着量の低い親水性高分子や疎水性高分子に親水化を施したものが好ましく、銅アンモニア法再生セルロース、ポリビニルアルコールを主成分とする高分子、部分ケン化セルロースが好ましい。濾液の生体への影響が小さい点からは、銅アンモニア法再生セルロースが最適である。

高分子多孔膜の形態は、平膜、チューブ状膜、中空糸膜等が挙げられる。

除去すべきウイルスは、特に限定されない。本発明はエイズウイルス、B型肝炎ウイルス、成人T細胞白血病ウイルス、日本脳炎ウイルス等人を宿主とするウイルスあるいはBovine viral diarrhoea virus、アヒル肝炎ウイルス等家畜を宿主とするウイルスの除去に適用出来る。

本発明での濾過の対象となる血漿としては、血液から遠心分離された人血漿、血液から膜分離された人血漿、成分採血された人血漿または新鮮凍結人血漿、あるいは遠心分離または膜分離された牛血漿、胎児牛血漿、子牛血漿その他の家畜の血漿が好適である。

本発明のウイルス除去のための血漿濾過方法の実際の実施について、添付図面を用いて説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

第1図は、現在献血採血の際に広く行われている採血回路に、本発明の血漿濾過方法を組み込んだものである。即ち、採血バッグ(1)に採取された血液は、遠心分離器で血漿と血球に分離された後、血漿は血漿バッグ(2)に採取される。血漿バッグ(2)に採取されたウイルスを含有しているかもしれない血漿は、最初から血漿バッグ(2)に連結されていた本発明の血漿濾過回路で濾過されウイルス除去血漿バッグ(4)に収納される。濾過は弁(3)を開くことにより開始されるが、血漿バッグ(2)と濾過血漿バッグ(4)

(7)から人体に輸注される。第3図(b)は回路にドリップチャンバー(8)を入れたものである。

蛋白質の回収率および透過率を低下させることなくウイルスの阻止率をさらに高めるためには、高分子多孔膜の孔構造として下記のような特別な構造を与えることが好ましい。即ち、多孔膜の表面の孔構造がネットワーク構造であり、かつ、膜厚方向にはネットワークが積層した多層構造をとっている。ここでネットワーク構造とは高分子が網目状の凝集体を構成し、網の目に対応するのが孔である構造である。多層構造とは、(a)高分子多孔膜の表面あるいは裏面に平行な面内では注目する面内の場所に依存せず、ほぼ、同一の孔径分布と孔形状を持ち、この1枚の面では濾過性能の点で1枚のスクリーンフィルターとして近似できる。(b)該平面内での相互の位置関係は実質的には無秩序かあるいは多孔膜が中空系の場合には、繊維軸方向へのみ配列する規則性が認められ、(c)この面内ではある特定された孔径分布

と高さの差をとることにより、重力で自然落下で行うことも出来るし、あるいは弁(3)の後にペリスタポンプ等を設置して行っても良い。

第2図は、現在献血採血の際に広く行われている採血回路に、本発明の血漿濾過方法を遠心分離後に結合する方式を説明したものである。即ち、採血バッグ(1)に採取された血液は、遠心分離器で血漿と血球に分離された後、血漿は血漿バッグ(2)に採取される。

本発明の回路を、血漿バッグ(2)に無菌的に接合し(10)、第1図で説明したと同じ方法で濾過する。無菌的に接合する装置としては、たとえばデュポン社の無菌接合器がある。

第3図は、輸血時における本発明の適用を説明したものである。(1)は血漿あるいは、新鮮凍結血漿を入れた血漿バッグであり、これに本発明の回路を結合して血漿を濾過して人体に輸注する。第3図(a)において、濾過は弁(3)を開くことにより開始され血漿は前段フィルター(5)後段フィルター(6)を経て、輸注針

と平均孔径、面内空孔率が測定でき、(d)膜表面からの厚さ方向での距離を異にする面の相互の間には、平均孔径、孔径分布、面内空孔率のいずれが、膜表面からの距離に依存して変化し、各層間の孔には相互に事実上相関性はない。層状構造をもつ多孔膜は、液体空隙中で破断し、その断面を電子顕微鏡で観察すると、直径0.1~2 μ mの粒子(粒子径を2S₂とする)の堆積物で近似される。層状構造の層数は $\sqrt{6T}/4S_2$ で与えられる。層数を10以上にするとウイルスの除去率は極端に大きくなる。高分子素材として親水性高分子を採用し、さらに、該高分子多孔膜の形状として内径が100 μ m~1mm、膜厚が10~100 μ mである中空系を採用すれば、被分離液体に対して蛋白質の透過性、蛋白質の回収率、ウイルス阻止率のいずれも高性能で安全な分離特性を与えることが出来る。

本発明で示された孔構造の特徴を持つ膜は(a)ミクロ相分離を発生させ(b)該分離で発生した粒子(高分子濃縮相が粒子となる場合が大

部分であり、高分子希薄相が粒子となる場合もある)の直径が50nm以上1000nm以下となるように成長させ(c)該分離が膜の表裏面にそって同時に発生し、膜厚方向に進行させるために、厳密に原液および凝固液の組成および温度が制御されている条件下で製膜される。

銅アンモニア法再生セルロース多孔膜を例にして本発明で示した多孔膜の製法を説明する。セルロース濃度を2~10%の範囲内で設定した溶液を調整する。紡糸原液から未溶解成分、および気泡を除去する。紡糸原液は10~40℃の設定された温度に厳密に制御(通常±0.1℃以内)されている。2重紡口の中央紡出口より厳密に温度と組成が制御された凝固剤(中空剤)を吐出する。吐出された紡糸原液はただちに凝固浴を通過する。この際の凝固浴には、中空剤と類似の組成液を採用すればよい。ただし、凝固浴の液組成と液温度とは厳密に制御されていることが必要である。中空剤と凝固浴中の液体とによりマイクロ相分離が発生する。凝固浴の長さ、紡速、中空剤の吐

出速度、巻き取り速度を制御することにより原液中に粒子を発生させ、直径50nm~1000nmの範囲で最終の中空系内部の粒子径を定めることが出来る。かくして得られた中空系を希硫酸で再生後水洗し、緊張下で乾燥する。

以下に本発明で測定される種々の物性値の測定方法をまとめて示す。

蛋白質濃度：アルブミンの場合は紫外線吸収スペクトルの波長280nmの透過率より予め定めた検量線を用いて算出した。

アルブミン透過率：人血清アルブミンを5重量%の濃度で純水中に溶解する。得られた溶液を用いて膜間差圧200mmHgで膜の有効透過面積1㎡あたり0.1ℓの透過をした際、透過前、及び透過後のアルブミン濃度(それぞれC、およびC')より次式で透過率を算出する。

$$\text{透過率}(\%) = (C' / C) \times 100(\%)$$

純水および5重量%のアルブミン水溶液の透過速度：純水および5重量%の人血清アルブミン水溶液を20℃で膜間差圧200mmHgで透過す

る。透過速度で0.05ℓ/㎡における平均の透過速度を算出しこれを透過速度とする。

金コロイド粒子の阻止率：30nmの金コロイド粒子は、Nature(Vol. 241, 20-22, January 1 1973) "Controlled Nucleation for the Regulation of the Particle Size in Monodisperse Gold Suspensions"の報文に基づいて、H.A.C.I.のクエン酸ソーダによる還元反応で調製した。単分散粒子の粒径は、電子顕微鏡で測定する。金コロイド粒子の元液濃度は、粒子数で約 10^{11} 個/mlであり、濾液中の粒子数は吸光度法(波長530μm)で定値する。

高分子多孔膜の構造：高分子多孔膜を樹脂(例えば、アクリル樹脂)で包埋後、ウルトラミクローム(スエーデンLKB社製Ultratom Ⅲ8800型)に装着したガラスナイフを用いて表面(中空系の場合、外壁面)から膜厚方向に

$$\text{Pre}(\% \text{表示}) = (\pi \int r^2 N(r) dr) \times 100$$

そって厚さ0.5~1μmの試料を順に切りだす。その試料切片を溶媒(例えば、クロロホルム)で脱包埋後、それぞれの切片の電子顕微鏡写真を撮る。注目する切片の1cm²あたり、孔半径が $r \sim r + dr$ に存在する孔の数を $N(r)dr$ と表示する。面内空孔率(Pre)は次式で与えられる。

水透過速度法による平均孔径($2\overline{r}_r$)：純水をあらかじめ平均孔径0.2μmのフィルターを用いて濾過し、微粒子を除去した純水を作る。この純水を20℃で膜間差圧(ΔP)200mmHgの一定圧力下で透過速度 J_v を測定する。ただし、 J_v の単位は(ml/分)である。測定に使用した高分子多孔膜の有効面積をAとし、見かけ密度法で得られた該多孔膜の空孔率をPrpとすると、 $2\overline{r}_r$ (nm単位)は次式で与えられる。

$$2\overline{r}_r = \sqrt{J_v \cdot d \cdot \eta / \Delta P \cdot A \cdot \text{Prp}}$$

ここで、 d は膜厚(μm 単位)、 η は純水の粘度(センチポイズ単位)。

肝炎ウイルス濃度:HBs抗原、HBs抗原はRPHA法で、HBV:DNAはBERNINGER等の方法に準じた。即ち、検体 $25\mu\text{L}$ をPROTEINASE Kで処理し、DNAを抽出した。硝酸セルロース膜に抽出DNAとHBV-DNA標準(国立予防衛生研究所製LOT D1)とを同時にスポットした。ニクトランスレーションはBRL社製キットを用いて ^{32}P でラベルしたHBV-DNAをハイブリダイゼーションに用いた。

(実施例)

次に実施例により本発明をさらに詳細に説明する。

(実施例1)

セルロースリンターを精製しこれを公知の方法で調製した銅アンモニア溶液(銅/アンモニア/水の重量比が $3.1/6.8/90.1$)中に 8.5 重量%で溶解し、濾過後脱泡し紡糸原液と

中空系の外径は $300\mu\text{m}$ 、膜厚は $32\mu\text{m}$ 、内径は $236\mu\text{m}$ であった。該中空系の内外壁面の走査型電子顕微鏡観察によれば、両壁面はいずれもネットワーク構造をとり、また、該ネットワークが堆積した構造を示す。粒子直径 $2S_2$ は $0.30\mu\text{m}$ 、 $2r_r$ は 30nm 、 Pre は 45% であった。 30nm 金コロイド粒子の阻止係数は 1.7 であり、 J_p/J_w は $1/10$ あり、アルブミン透過率は、 99.9% 以上であった。

この中空系を 500 本束ねて有効濾過面積 0.03m^2 の円筒状の濾過用モジュールを組み立てた。

また、セルロース濃度 5.8% の紡糸原液を調整し、同様にして紡糸・乾燥を行い、 $2r_r$ は 80nm 、 Pre は 45% 、 30nm 金コロイド粒子の阻止係数は 1.1 であり、 J_p/J_w は $1/10$ あり、アルブミン透過率は、 99.9% 以上である中空系を得た。これらの中空系 500 本をたばね有効膜面積 0.03m^2 の円筒状の濾過用モジュールを組み立てた。

した。この紡糸原液を $25.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ に制御しつつ環状紡糸口の外側紡出口(外径 $2\text{mm}\phi$ 、内径 $1.2\text{mm}\phi$)より $1.9\text{ml}/\text{分}$ で吐出させた。一方水/アセトン/アンモニア比 $100.0/68.0/0.99$ (重量比)で厳密に組成が制御された溶液(以下中空剤と略称)を採用し、これを $25.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ に温度制御しつつ中央紡出口(外径 $0.6\text{mm}\phi$)より $4.9\text{ml}/\text{分}$ で吐出させた。吐出された糸状物を水/アセトン/アンモニア比 $100.0/70.0/1.0$ (重量比)で厳密に組成が制御された $25.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ の混合溶液中に直接導き該溶液中で $6.9\text{ml}/\text{分}$ の速度で巻き取った。吐出直後の透明青色状の繊維状物は次第に白色化し、ミクロ相分離を生起し、引きつづいて凝固が起こり、繊維としての形状が維持されていた。その後、 $25.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ で 2 重量%の硫酸水溶液で定長で再生し、その後水洗し、水を徐々にメタノールに置換した。メタノールに置換後の中空糸を 20.0°C で真空乾燥した。かくして得られた

この孔径 80nm のモジュールと孔径 30nm のモジュールとを直列に連結して、孔径 80nm のモジュールが濾過元液側にくるように配置して、第4図のような回路をつくる。(1)の血漿バッグにB型肝炎ウイルスを含む(ウイルス濃度 10^6 個/ ml)血漿約 90ml を注入する。(4)は濾過血漿の収納バッグであり、(1)の血漿バッグとの高さの差を、第4図に示すように 1.5m とっている。血漿バッグを壁または、スタンドに吊して、コック(3)を開いて濾過を開始する。濾過は 1.5m のヘッド差で行われる。

濾過を開始してから、血漿バッグ内の血漿が空になるまでの時間を濾過時間とする。この場合の実験では、血漿中のトリグリセライドが $61.4; 98.5; 151.3\text{mg}/\text{ml}$ の3水準で濾過を行った(実施例1~実施例3)。比較対照例として、それぞれの場合に、 30nm のモジュール1個の濾過も行った(比較例1~比較例3)。実験結果を第1表に示す。得られた濾過血漿中のB型肝炎ウイルス濃度は、いずれの場合について

も検出限界以下であった。また総蛋白濃度も血漿中のその94%であった。

(以下余白)

第1表 本発明方法による実施例

| | フィルター 孔径 (nm) | 濾過面積 (cm^2) | 血漿 量 (ml) | トリグリセライド (mg/ml) | リポ蛋白質 (mg/ml) | 濾過時間 (min) | HBウィルス 阻止率 (LRV) |
|------|---------------------|---------------------------|-----------------|---------------------|------------------|---------------|------------------------|
| 実施例1 | 1段目80 2段目30 | 0.03 0.03 | 88.5 | 61.4 | 287.7 | 17 | >6 |
| 比較例1 | 30 | 0.03 | 88.3 | 61.4 | 287.7 | 81 | >6 |
| 実施例2 | 1段目80 2段目30 | 0.03 0.03 | 86.7 | 98.5 | 366.4 | 27 | >6 |
| 比較例2 | 30 | 0.03 | 88.7 | 98.5 | 366.4 | 103 | >6 |
| 実施例3 | 1段目80 2段目30 | 0.03 0.03 | 86.6 | 151.3 | 497.4 | 45 | >6 |
| 比較例3 | 30 | 0.03 | 87.3 | 151.3 | 497.4 | 150 | >6 |

(発明の効果)

本発明によれば、血漿中あるいは、血漿分画製剤中に混入したウイルスを高い除去率で出来るとともに、血漿中の脂質濃度に関係なく大きい濾過速度で濾過出来、かつ血漿中の有用蛋白質も高率で回収できるので、献血採血、臨床の医学の現場で利用出来る。またバイオインダストリー分野での工業用、研究用の細胞培養培地用血清からのウイルス除去に利用できる。

4. 図面の簡単な説明

第1図は、本発明を採血回路に適用した1例を示す説明図。第2図は、採血回路に適用した他の例を示す説明図。第3図(a)は、本発明を輸注回路に適用した1例を示す説明図。第3図(b)は、輸注回路に適用した例の例を示す説明図。第4図は、実施例1の説明図。

- | | |
|-----------|------------|
| 1. 採血バッグ | 5. 前段フィルター |
| 2. 血漿バッグ | 6. 後段フィルター |
| 3. 弁(コック) | 7. 輸注針 |

4. 濾過血漿バッグ

8. ドリップチャンバー

10. 無菌的接合

代理人 弁理士 佐々木 俊哲

